

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22525

研究課題名(和文)腸内細菌叢を介したがん抑制遺伝子p53による消化管障害抑制機構の解明

研究課題名(英文) Suppression of radiation-induced gastrointestinal disorders through the regulation of intestinal flora by the tumor suppressor p53

研究代表者

谷川 千津(TANIKAWA, CHIZU)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：30422421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：p53はヒトがんの約半数で変異が生じる最も重要ながん抑制遺伝子である。p53ノックアウトマウスは放射線照射に対して重症の腸管症候群を示すことが知られているが、その機序はこれまで不明であった。我々は放射線照射前後の野生型およびp53ノックアウトマウス糞便の解析を行い、p53が腸内細菌叢およびその代謝物である短鎖脂肪酸を制御することにより消化管障害を抑制する可能性を示した。さらに、小腸においてp53により最も強く発現誘導される急性期タンパク質を、腸内細菌叢を制御するp53標的遺伝子の候補として同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の次世代シーケンシング技術の進歩によりマイクロバイーム研究は著しい発展を遂げ、腸内細菌叢の変化は肥満や炎症性腸疾患だけでなく、自閉症や肝がん、大腸がん等様々な疾患との関連が示されている。一方p53と腸内細菌叢の関連はこれまで報告されていなかった。本研究により、p53による腸内細菌叢の制御が明らかになったことで、消化器がん・炎症性腸疾患の新たな制御メカニズムが示唆された。さらに消化管障害に關与するp53下流遺伝子群は分泌タンパク質であることから、その投与により、高リスク群に対して腸内細菌叢やその代謝産物である短鎖脂肪酸を標的とした予防的介入または治療の可能性が開かれると期待される。

研究成果の概要(英文)：p53 is the most frequently mutated tumor-suppressor that functions as a transcription factor. p53-deficient mice are sensitive to radiation-inducible gastrointestinal disorders, however its molecular mechanism has not been elucidated. We found a novel role of p53 in intestinal flora control. The gut microbiota and its metabolite, short-chain fatty acids, were altered in the feces of p53-deficient mice after irradiation. We screened the p53 target genes in the mouse small intestine and found that p53 strongly induces some acute phase proteins.

研究分野：分子腫瘍学、ゲノム医科学

キーワード：p53 腸内細菌叢 消化管障害

1. 研究開始当初の背景

p53 は約半数のがんにおいて体細胞変異を認め、また家系内に様々な腫瘍が発生する Li-Fraumeni 症候群の原因遺伝子としても知られている。p53 は転写因子として機能し、多くの下流遺伝子の発現制御を介して多様ながん抑制機能を発揮する。我々を含めた多くの研究者により、p53 の機能は、アポトーシス誘導や細胞周期停止など細胞増殖を直接的に制御するものに加え、代謝など細胞の恒常性維持、翻訳後修飾の制御など多岐にわたることが明らかとなってきた (谷川, 実験医学 35(14): 2329-2334, 2017)。

p53 の重要ながん抑制機能の一つはアポトーシス誘導であり、実際に造血器組織において p53 ノックアウトマウスは放射線照射によるアポトーシスに抵抗性となる。その一方、消化管組織においては野生型と比較し放射線照射に対する感受性が高くなることが知られている。我々の検討結果においても、p53 ノックアウトマウスにおいて、放射線照射後に小腸浮腫の重症化、腸管壁の菲薄化、クリプトの短小化、生存期間の短縮などが検出された。しかし、消化管障害を p53 がどのように抑制しているのか、その機序はこれまで不明であった。

2. 研究の目的

そこで我々は、がん抑制遺伝子 p53 が消化管障害を抑制するメカニズムの解明を目指すこととした。はじめに、近年注目されている腸内細菌叢に着目し、その関与を検討した。予備実験として抗生物質投与後に放射線を照射したところ、p53 ノックアウトマウスにおける消化管障害が顕著に軽減したことから、消化管障害への腸内細菌叢の関与が示唆された。そこで、マウス糞便を用いて 16S rRNA シークエンスを実施したところ、放射線照射後に野生型マウスに見られるルミノコッカスの顕著な上昇が p53 ノックアウトマウスでは認められないという結果が得られ、p53 による腸内細菌叢制御が初めて明らかとなった。これらの結果に基づき本研究では、p53 による消化管障害抑制への腸内細菌の関与について、メカニズムの解明と臨床応用へ向けた基盤的解析を実施することとした。

具体的な研究目的として次の 2 つを設定する。まず、p53 により制御される腸内細菌叢の代謝産物を解析することで、消化管障害の制御メカニズムの解明を目指す。さらに、腸内細菌叢制御に関わる p53 標的遺伝子の同定を目指すとともに、同定遺伝子と疾患リスクとの関連も検討する。

3. 研究の方法

(1) 短鎖脂肪酸の分析

腸内細菌は、主としてその代謝産物を介し腸管細胞および宿主へ影響を与えることが知られており、主要代謝産物である短鎖脂肪酸はこれまでに、腸細胞のエネルギー源となること、腸管上皮のバリアや免疫系へ影響を与えることなどが報告されている。我々の予備検討により p53 を介した制御が示唆されたルミノコッカスは、酪酸を産生することが知られている。そこで、p53 野生型およびノックアウトマウスを用いて、腸内細菌の主要代謝産物である短鎖脂肪酸の変化を検討した (テクノスルガ・ラボへ外注)。

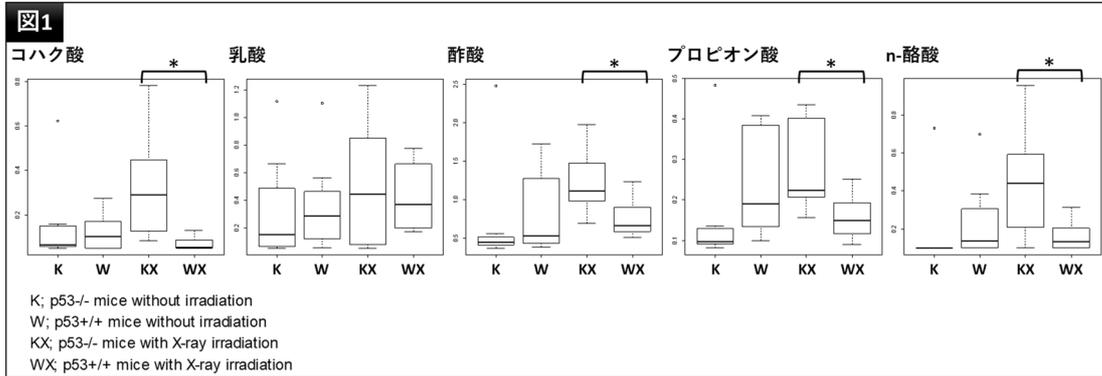
(2) 候補遺伝子の探索

我々は p53 ノックアウトマウスを用いて放射線照射後の 24 組織において網羅的発現解析を行い、約 5000 の遺伝子が p53 依存的に発現制御を受けることを明らかとした (Tanikawa C et al. EBiomedicine 20:109-119, 2017)。このことは、これまで考えられていた以上に多くの遺伝子・経路が p53 により制御されていることを示している。p53 により発現が誘導される遺伝子のうち、Gene ontology 解析により、腸内細菌の制御に関わる遺伝子を抽出した。

4. 研究成果

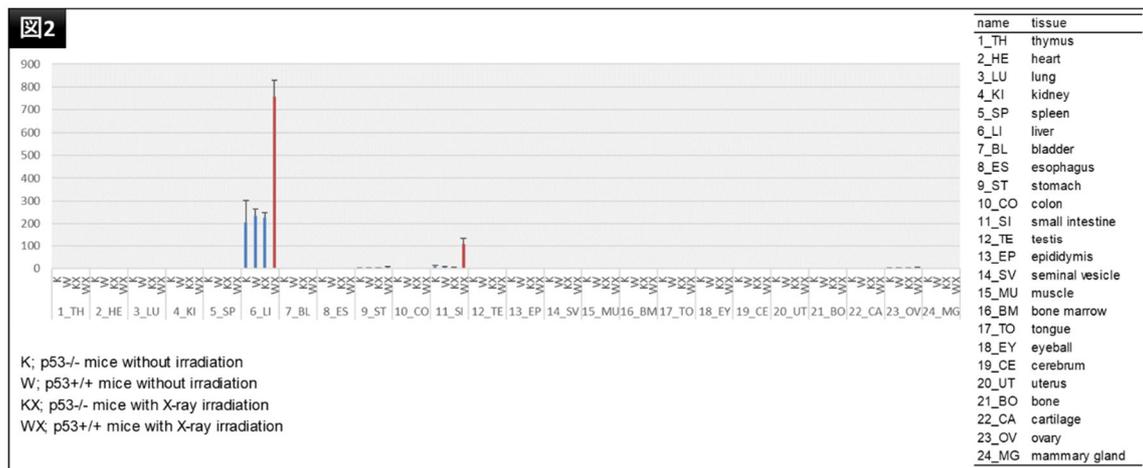
(1) p53 による消化管障害抑制メカニズムの解明

p53 野生型およびノックアウトマウスを用いて、腸内細菌の主要代謝産物である短鎖脂肪酸の変化を検討した。腸内細菌叢の検討と同様、放射線照射の前後で排泄便を回収し、糞便中の短鎖脂肪酸の分析を行った。その結果、複数の短鎖脂肪酸において p53 有無による違いを認められた (図 1)。さらに腸管免疫への影響を検討するため、IgA を測定した。腸内細菌叢の検討と同様、p53 野生型およびノックアウトマウスを用いて、放射線照射の前後で排泄便を回収し、糞便中の IgA の分析を行った。その結果、p53 野生型およびノックアウトマウス間で分泌 IgA 量に変化が認められた。

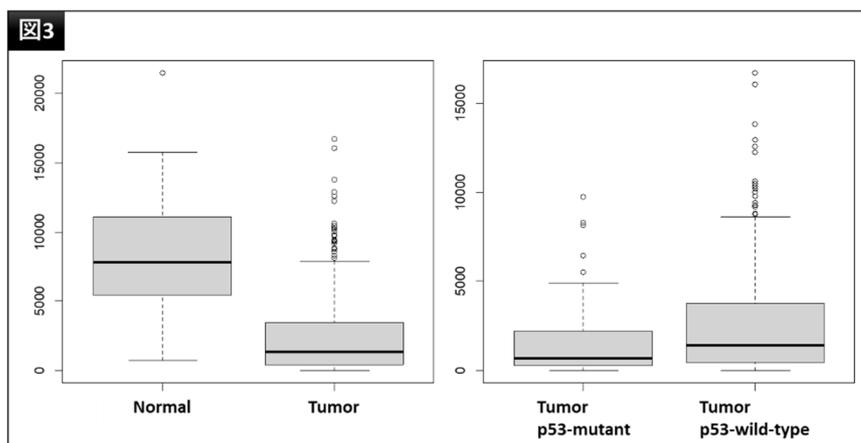


(2) 腸内細菌叢を制御する p53 標的遺伝子の同定

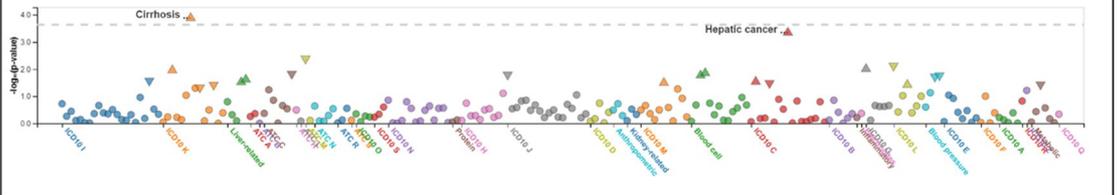
p53 により発現が誘導される遺伝子のうち、Gene ontology 解析により、腸内細菌の制御に関わる 113 遺伝子を抽出した。さらに、その誘導が小腸・大腸・肝臓組織に認められる遺伝子として、4 つの急性期タンパク質が候補として絞られた。いずれも p53 による直接の転写制御が証明された。p53 による誘導が小腸・肝臓組織に認められる遺伝子として、さらに候補 X を絞りこんだ (図 2)。



候補 X は肝臓において最も高い発現を示し、また近年、多くの肝疾患において腸内細菌叢の関与が報告されている。TCGA のデータベースによると、肝がんおよび胆管がんにおいて候補 X の発現が低下しており、さらに p53 変異型の肝癌では、野生型の肝癌に比べて発現が低下していた (図 3)。



また、この候補について、関連疾患への影響を検討した。候補遺伝子内の機能的な多型について、東京大学のバイオバンクジャパンに保管されている 17 万人の遺伝子型情報および臨床情報を利用し、これら多型の大腸直腸がん・炎症性腸疾患への関与を検討した。その結果、候補 X の血中低濃度と関連する SNP が、肝硬変および肝がんの発症リスクに関連している可能性が示された (図 4)。これらの結果は、p53-候補 X 軸による腸内細菌叢の制御が複数の消化管疾患発症に重要であることを示唆している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Curry Joshua N., Saurette Matthew, Askari Masomeh, Pei Lei, Filla Michael B., Beggs Megan R., Rowe Peter S.N., Fields Timothy, Sommer Andre J., Tanikawa Chizu, Kamatani Yoichiro, Evan Andrew P., Totonchi Mehdi, Alexander R. Todd, Matsuda Koichi, Yu Alan S.L.	4. 巻 130
2. 論文標題 Claudin-2 deficiency associates with hypercalciuria in mice and human kidney stone disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 1948 ~ 1960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI127750	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sakai Kensuke, Tanikawa Chizu, Hirasawa Akira, Terao Chikashi, Kamatani Yoichiro, Takahashi Atsushi, Momozawa Yukihide, Hirata Makoto, Kubo Michiaki, Matsuda Koichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Identification of a novel uterine leiomyoma GWAS locus in a Japanese population	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-58066-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Lu Yingchang, Tanikawa Chizu, Matsuo Keitaro, Kamatani Yoichiro, Matsuda Koichi, Zheng Wei	4. 巻 29
2. 論文標題 Identification of Novel Loci and New Risk Variant in Known Loci for Colorectal Cancer Risk in East Asians	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention	6. 最初と最後の頁 477 ~ 486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1055-9965.EPI-19-0755	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Low Siew-Kee, Ito Hidemi, Matsuo Keitaro, Tanikawa Chizu, Matsuda Koichi, Saito Hiroko, Kamatani Yoichiro, Momozawa Yukihide, Murakami Yoshinori, Inazawa Johji, Nakamura Yusuke, Kubo Michiaki, Katagiri Toyomasu, Miki Yoshio	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of two novel breast cancer loci through large-scale genome-wide association study in the Japanese population	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-53654-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Howles Sarah A., Wiberg Akira, Goldsworthy Michelle, Bayliss Asha L., Gluck Anna K., Ng Michael, Grout Emily, Tanikawa Chizu, Kamatani Yoichiro, Terao Chikashi, Takahashi Atsushi, Kubo Michiaki, Matsuda Koichi, Thakker Rajesh V., Turney Benjamin W., Furniss Dominic	4. 巻 10
2. 論文標題 Genetic variants of calcium and vitamin D metabolism in kidney stone disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13145-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Liu Yu-Yu, Tanikawa Chizu, Ueda Koji, Matsuda Koichi	4. 巻 54
2. 論文標題 INKA2, a novel p53 target that interacts with the serine/threonine kinase PAK4	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1907 ~ 1920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2019.4786	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanikawa Chizu, Kamatani Yoichiro, Terao Chikashi, Usami Masayuki, Takahashi Atsushi, Momozawa Yukihide, Matsuo Keitaro, Mikami Haruo, Naito Mariko, Wakai Kenji, Yamaji Taiki, Sawada Norie, Iwasaki Motoki, Tsugane Shoichiro, Kohri Kenjiro, Yu Alan S.L., Yasui Takahiro, Murakami Yoshinori, Kubo Michiaki, Matsuda Koichi	4. 巻 30
2. 論文標題 Novel Risk Loci Identified in a Genome-Wide Association Study of Urolithiasis in a Japanese Population	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 855 ~ 864
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2018090942	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Megumi, Okumura Kazuhiro, Isogai Eriko, Araki Kimi, Tanikawa Chizu, Matsuda Koichi, Kamiyo Takehiko, Kominami Ryo, Wakabayashi Yuichi	4. 巻 139
2. 論文標題 A Polymorphic Variant in p19Arf Confers Resistance to Chemically Induced Skin Tumors by Activating the p53 Pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 1459 ~ 1469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2018.12.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lu Yingchang, Tanikawa Chizu, Matsuo Keitaro, Kamatani Yoichiro, Zeng Yi-Xin, Shu Xiao-Ou, Long Jirong, Matsuda Koichi, Zheng Wei	4. 巻 156
2. 論文標題 Large-Scale Genome-Wide Association Study of East Asians Identifies Loci Associated With Risk for Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1455 ~ 1466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2018.11.066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------